

На правах рукописи

ВАЛИТОВА ЯНА РАИСОВНА

**ВЫСОКОЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ
5,7-ДИНИТРОБЕНЗОФУРАЗАНОВЫХ И НИТРОБЕНЗОДИФУРАЗА-
НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОВ**

02.00.02 - Аналитическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук**

Казань – 2006

Работа выполнена на кафедре аналитической химии,
сертификации и менеджмента качества
в Казанском государственном технологическом университете

Научный руководитель: доктор химических наук,
профессор Евгеньев Михаил Иванович

Официальные доктор химических наук,
оппоненты: профессор Евтюгин Геннадий Артурович
доктор химических наук,
профессор Новиков Вячеслав Федорович

Ведущая организация: Казанский государственный технический
университет им. Туполева

Защита состоится "26" декабря 2006 года в 14 часов на заседании
диссертационного совета К 212.081.04 в Казанском государственном
университете по адресу: 420008, ул. Кремлевская, 18, НИХИ им. А.М. Бутлерова,
Бутлеровская аудитория.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке им. Н.И.
Лобачевского Казанского государственного университета.

Отзывы на автореферат просьба присылать по адресу: 420008, г. Казань,
ул. Кремлевская 18, Казанский государственный университет, Научная часть.

Автореферат разослан « » 2006 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
кандидат химических наук

Шайдарова Л.Г.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Ароматические амины широко используются в промышленности для производства красителей, антиоксидантов, полимерных материалов и лекарственных веществ. Многие из аминосоединений являются высокотоксичными и их содержание требует контроля. Высокая полярность молекул, слабо выраженные флуорофорные, электрофорные и хромофорные характеристики затрудняют анализ ароматических аминов спектрофотометрическим, тест- и хроматографическими методами. Сильная изменчивость свойств аминосоединений в зависимости от степени замещения аминогруппы делает невозможным использование традиционных методов органического анализа. Поэтому необходимой стадией пробоподготовки вещества к анализу является химическая модификация (derivatization) определяемых соединений. Использование реакций дериватизации, в результате которых получают производные с улучшенными детекционными характеристиками в хроматографическом анализе, позволяет устранить мешающее влияние матрицы в случае анализа ароматических аминов биогенного происхождения, увеличить коэффициент селективности и эффективность разделения за счет уменьшения полярности молекул, сократить время анализа, что выгодно с экономической точки зрения. Самым эффективным методом анализа определяемых соединений в объектах окружающей среды и технологических средах является метод высокоэффективной жидкостной хроматографии. Эффективными реагентами для получения производных ароматических аминов являются 4-хлор-7-нитробензодифуразан (БДФЗ) и 4-хлор-5,7-динитробензофуразан (БФЗ). Актуальность работы обусловлена необходимостью разработки быстрых, чувствительных и селективных методик анализа таких важнейших загрязнителей окружающей среды и канцерогенных веществ, к которым относятся ароматические амины. Результаты работы могут быть востребованы в экологических, медицинских, криминалистических службах и пищевой промышленности.

Перечисленные факты определяют **цель** настоящей работы, которая состоит в следующем:

- определить факторы, влияющие на эффективность и селективность разделения нитробензодифуразановых и динитробензофуразановых производных ароматических аминов в обращенно-фазовой хроматографической колонке;
- установить общие закономерности и степень влияния различных параметров на элюирование бензофуразановых производных ароматических аминов;
- выявить рабочие условия чувствительного и селективного хроматографического определения ароматических аминов в различных объектах окружающей среды.

Достижение поставленной цели включало решение следующих **задач**:

1. синтезировать 5,7-динитробензофуразановые и нитробензодифуразановые производные исследуемых ароматических аминов;
2. оценить кислотность 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов методом потенциометрического титрования соединений в неводных средах;
3. провести хроматографическое разделение растворов определяемых производных ароматических аминов в элюентах различной природы,

отличающихся содержанием воды и pH буферного раствора, входящего в их состав;

4. разработать методики определения ароматических аминов в различных объектах.

Научная новизна. Установлены корреляционные зависимости между временами удерживания и природой 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов (константы кислотной диссоциации и константы заместителей в ароматическом кольце) в различных элюентах. Оценено влияние ряда химических факторов (природа элюента, содержания водной фазы в водно-неводной смеси и ее pH) на эффективность разделения в хроматографической колонке. Показано, что характер и интенсивность проявления свойств элюента определяются кислотностью 5,7-динитробензофуразановых- и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов. На основании полученных корреляционных зависимостей выявлен подходящий состав элюента (природа, содержание воды, pH буферного раствора) для чувствительного и селективного хроматографического разделения и определения исследуемых соединений.

Практическая значимость. Выявлены факторы (кислотность соединений, состав элюента и pH среды), позволяющие проводить определения ароматических аминов в оптимальных условиях. Предложены методики чувствительного и селективного определения ароматических аминов в модельных растворах и объектах окружающей среды.

На защиту выносятся следующие положения диссертации:

- Константы кислотной диссоциации 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов в ДМСО и ДМФА;
- Корреляционные зависимости между временами удерживания и константами кислотной диссоциации, а также между временами удерживания и константами заместителей Гаммета в ароматическом кольце в различных элюентах;
- Результаты исследования зависимости эффективности хроматографической колонки от природы исследуемых соединений и свойств используемого элюента;
- Зависимость степени проявления свойств элюента от кислотности исследуемых 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов;
- Методики чувствительного и селективного определения ароматических аминов в виде их 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных в модельных смесях и сточных водах предприятий.

Апробация работы. Основные результаты работы доложены на VIII Молодежной научной школе-конференции по органической химии (Казань, 2005), Научной сессии Казанского государственного технологического университета (Казань, 2006), 2 Всероссийской конференции "Аналитические приборы" (С.-Петербург, 2005), Международном конгрессе по аналитическим наукам ICAS-2006, (Москва, 2006).

Публикации. Основное содержание работы изложено в 3 статьях и 4 тезисах докладов.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, 3 глав экспериментальной части, списка используемой литературы. Диссертационная работа изложена на 140 страницах машинописного

текста, содержит 22 рисунка, 8 таблиц и библиографический список из 205 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

ГЛАВА I. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В обзоре литературы описаны основные области применения ароматических аминов, обсуждены их токсические свойства. Рассмотрены методы и основные реагенты анализа ароматических аминов, обоснована необходимость проведения реакций дериватизации во время пробоподготовки исследуемых веществ к анализу. Показаны преимущества применения хроматографических методов анализа в медицине, анализе объектов окружающей среды, пищевой промышленности, в криминалистике. Определены основные факторы (природа разделяемых веществ, природа и состав элюента), влияющие на удерживание соединений в хроматографической колонке. Приведены примеры повышения эффективности и селективности хроматографического разделения веществ при использовании элюентов различного состава.

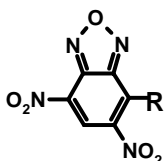
ГЛАВА II. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

На основе представленных литературных данных сформулированы основные задачи исследования, описаны аппаратура, объекты и техника эксперимента. В работе использована система высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) HP1100 (Hewlett-Packard, Waldbronn, FRG). Для исследований применяли хроматографически чистые ацетонитрил и метанол (Криохром, Санкт-Петербург). Вода хроматографической чистоты получена на установке Simplicity 185 (Millipore, Франция).

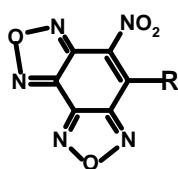
Для определения констант кислотной диссоциации был использован прецизионный pH-mV-метр mV-87S (Германия) с электронной индикацией потенциала (погрешность $\pm 0,2$ мВ). Использовали стеклянный электрод марки ЭСЛ-II-05 в качестве индикаторного и хлоридсеребряный электрод марки ЭВЛ-5М в качестве электрода сравнения. В качестве растворителей для титрования были выбраны диметилсульфоксид и диметилформамид. В качестве титранта используется 0,05 М раствор гидроокиси тетрабутиламмония (ТБАГ) в ДМСО или в ДМФА (AcrosOrganics, США). В качестве стандарта использовали 0,01 М раствор пикриновой кислоты (pK_a в ДМФА = 1,20, в ДМСО = - 1,9). Постоянную температуру эксперимента поддерживали при помощи термостата U-10 (Germany).

В качестве объектов эксперимента использованы 5,7-динитробензофуразановые и нитробензодифуразановые производные ароматических аминов. Синтез 4-хлор-5,7-динитробензофуразана (БФЗ) и метоксинитробензодифуразана проведен к.х.н. Левинсоном Ф.С.

Структурные формулы 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов приведены ниже:

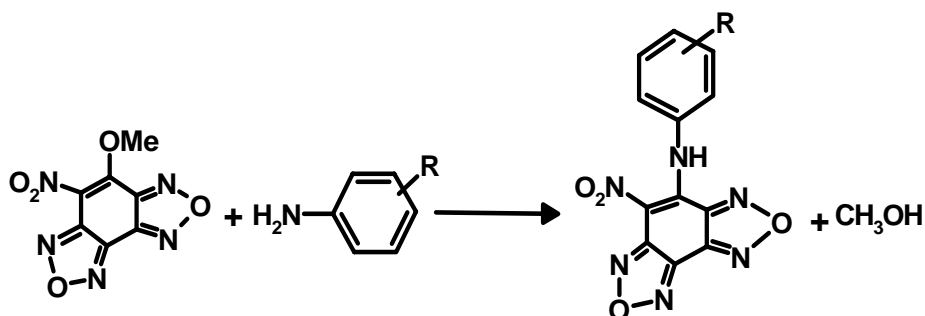


R = NH-Ph; NH-Ph-2'-Ph (4'-Ph); NH-Ph-2'-OCH₃ (3'-OCH₃; 4'-OCH₃); NH-Ph-2',5'-диCl (3',4'-диCl); NH-Ph-4'-Cl (2'-Cl); NH-Ph-3'-CF₃; NH-Ph-4'-Br; NH-Ph-4'-I; NH-Ph-4'-OH (3'-OH); NH-Ph-2'-CH₃ (3'-CH₃; 4'-CH₃); NH-Ph-2',5'-ди CH₃ (3',4'-диCH₃); Ph-4'-NH₂; NH-N(CH₃)₂; N(CH₃)-Ph; NH-Ph-4'-N=N-Ph; NH-Ph-4'-OC₂H₅; NH-Ph-4'-COOCH₃; NH-Ph-4'-COOC₄H₉; Ph-N(CH₃)₂; NH-Ph-2'-Ph; NH-CH₂-Ph (30 соединений).

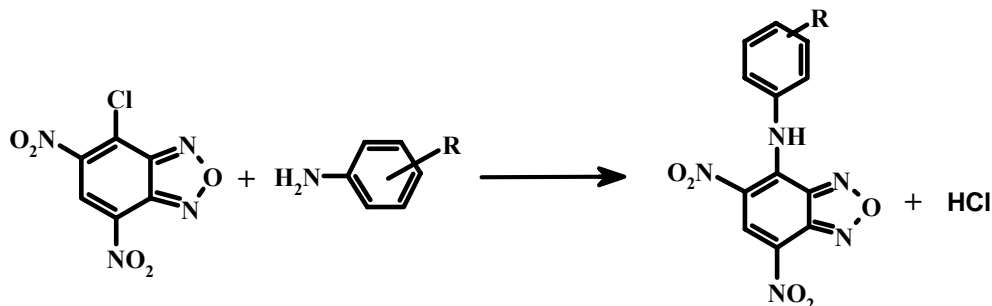


R = NH-Ph; NH-Ph-4'-CH₃ (3'-CH₃); NH-Ph-3'-Cl; NH-Ph-4'-Br; NH-Ph-4'-I; NH-Ph-4'-F; NH-Ph-3'-COOH; NH-Ph-4'-C₂H₅; NH-Ph-4'-NO₂; NH-Ph-4'-SO₂NH₂; NH-Ph-4'-N=N-Ph; NH-Ph-4'-COOC₂H₅; NH-Ph-3'-OH; NH-Ph-4'-COCH₃; NH-Ph-4'-COOCH₃; NH-Ph-3'-CF₃; NH-Ph-4'-CONH₂; NH-Ph-4'-OC₂H₅; NH-Ph-4'-Ph; NH-Ph-4'-Ph-4'-NO₂; NH-Ph-4'-OCH₃ (22 соединения).

Структуры полученных продуктов подтверждены результатами элементных анализов. В ИК-спектрах образцов обнаруживали характерные полосы поглощения бензофуразанового фрагмента (область 1580 – 1640 см⁻¹), NH-группы для ароматических заместителей (3200 см⁻¹), нитрогруппы - (1350, 1520 см⁻¹). Структуры полученных соединений подтверждены ЯМР ¹H - спектроскопией. Схемы синтеза нитробензодифуразановых и 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов приведены ниже:



метоксинитробензодифуразан R-фениламин 4-(R-фениламино)-нитробензодифуразан



4-хлор-5,7-динитробензофуразан R-фениламин 4-(R-фениламино)-5,7-динитробензофуразан

ГЛАВА III. ВЛИЯНИЕ ПРИРОДЫ ВЕЩЕСТВ НА ИХ УДЕРЖИВАНИЕ В УСЛОВИЯХ ОФ ВЭЖХ

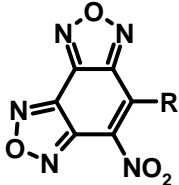
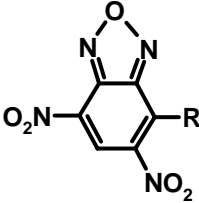
Исследуемые ариламиновые производные динитробензофуразана и нитробензодифуразана являются NH-кислотами. Константы кислотной диссоциации pK_a для ряда ариламиновых производных динитробензофуразана и нитробензодифуразана установлены методом неводного потенциометрического титрования. Полученные данные по кислотности 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов представлены в таблице 1. Константы диссоциации соединений использованы для оценки силы исследуемых производных как NH-кислот и выявления корреляционных зависимостей время удерживания (τ)= $f(pK_a)$.

Как видно из представленных в табл. 1 данных, значения констант кислотной диссоциации производных 5,7-динитробензофуразана указывают на более высокую кислотность веществ по сравнению с нитробензодифуразановыми производными

ароматических аминов. Это обусловлено большей электроотрицательностью NO₂ – группы, находящейся в п-положении к NH-реакционному центру по сравнению с фурановым фрагментом.

Из данных таблицы 1 также следует, что значения констант кислотной диссоциации производных в ДМСО значительно ниже, чем в ДМФА. Это связано с тем, что ДМСО как более дифференцирующий растворитель облегчает отрыв протона от NH-реакционного центра, усиливая силу исследуемых кислот в большей степени, чем ДМФА. Значения констант кислотной диссоциации зависят также и от электроноакцепторности заместителя в ариламинной части. Например, значение константы кислотной диссоциации для 4-(4'-гидроксифениламино)-5,7-динитробензофуразана составляет 2,05, а для 4-(2'-фенилфениламино)-5,7-динитробензофуразана - 0,43. Это является следствием того, что 4-(2'-фенилфениламино)-5,7-динитробензофуразан содержит в своей молекуле более электроотрицательный фенильный заместитель.

Таблица 1. Значения констант кислотной диссоциации (pKa) соединений в ДМСО и ДМФА

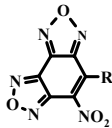
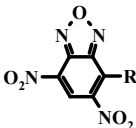
№	-R			
		pKa в ДМСО	pKa в ДМСО	pKa в ДМФА
1	NH-Ph-4'-OCH ₃	4,62	1,57	
2	NH-Ph-4'-OC ₂ H ₅	4,11	1,98	6,29
3	NH-Ph-4'-CH ₃	4,06	2,6	
4	NH-Ph-4'-C ₂ H ₅	4,36		
5	NH-Ph-3'-CH ₃	3,13	1,22	
6	NH-Ph-4'-Ph	2,9	1,17	5,31
7	NH-Ph	3,13	2,06	
8	NH-Ph-4'-F			
9	NH-Ph-4'-Ph-4'-NO ₂	2,74		
10	NH-Ph-3'-COOH			
11	NH-Ph-4'-CONH ₂	2,72		
12	NH-Ph-3'-Cl			
13	NH-Ph-4'-COOCH ₃		0,15	4,28
14	NH-Ph-3'-CF ₃	1,87	0,2	
15	NH-Ph-4'-COOC ₂ H ₅	2,44		
16	NH-Ph-4'-COCH ₃	1,61		
17	NH-Ph-4'-SO ₂ NH ₂	1,83		
18	NH-Ph-4'-NN-Ph	1,95	0,18	4,43
19	NH-Ph-4'-NO ₂	0,8		
20	NH-Ph-4'-OH		2,05	
21	NH-Ph-3'-OH		1,57	5,62
22	NH-Ph-2',3'-диCl			
23	NH-Ph-3',4'-диCl		-0,21	
24	NH-Ph-4'-Cl		0,27	
25	NH-Ph-4'-Br		0,73	4,85
26	NH-Ph-3'-OCH ₃		1,18	5,36
27	NH-Ph-4'-J		0,74	4,97
28	NH-Ph-4'-OPh		1,16	
29	NH-Ph-2',5'-диCl		-0,97	

30	NH-Ph-2'-Ph		0,43	
31	NH-N(CH ₃) ₂		0,56	
32	NH-Ph-2',5'-диCH ₃		1,07	
33	NH-Ph-2'-CH ₃		1,11	
34	NH-Ph-2'-OCH ₃		1,54	
35	NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉		1,86	
36	NH-Ph-3',4'-диCH ₃		2,72	
37	NH-CH ₂ -Ph		3,66	

Наблюдается корреляционная зависимость между константами кислотной диссоциации веществ в диметилсульфоксиде и диметилформамиде и константами заместителей Гаммета. В диметилсульфоксиде зависимость констант кислотной диссоциации соединений от констант заместителей в бензольном ядре описывается следующим уравнением: $\sigma = -0,28 pK_a + 0,36$ ($n=18, r=0,92$), в диметилформамиде $\sigma = -0,32 pK_a + 1,81$ ($n=8, r=0,96$).

Таким образом, сила кислот и степень проявления кислотности в ряду 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов определяется электроотрицательностью заместителей, находящихся в бензольном кольце соответствующего соединения.

Таблица 2. Влияние кислотности производных нитробензодифуразана и 5,7-динитробензофуразана в ДМСО и ДМФА на их удерживание в обращенно-фазовой ВЭЖХ

№	-R	pK _a в ДМСО	pK _a в ДМФА	Константа заместителя σ	Время удерживания, мин					
										
					CH ₃ CN	CH ₃ CN:H ₂ O 85:15, % об.	CH ₃ CN	CH ₃ CN:H ₂ O 85:15, % об.	CH ₃ CN:H ₂ O 70:30, % об.	CH ₃ OH
1	NH-Ph-4'-OCH ₃	4,62 (1, 57)		-0,268	3,100	2,427	2,379	3,152	5,550	2,837
2	NH-Ph-4'-OC ₂ H ₅	4,11 (1,98)	6,29	-0,24	3,118*	2,470	2,765	3,071	6,000	3,206
3	NH-Ph-4'-CH ₃	4,06 (2,6)		-0,17	3,210	2,374	2,612	3,228	7,290	3,125
4	NH-Ph-4'-C ₂ H ₅	4,36		-0,151	3,228*	2,518				
5	NH-Ph-3'-CH ₃	3,13 (1,22)		-0,069	2,687*	2,474	2,298	2,355	4,280	2,700
6	NH-Ph-4'-Ph	2,9 (1,17)	5,31	-0,01 (0,009)	2,900	1,992	2,148	2,662	3,340	2,822
7	NH-Ph	3,13 (2,06)		0	2,928	1,984	2,582	2,988	5,570	3,096
8	NH-Ph-4'-F			0,062		1,880				
9	NH-Ph-4'-Ph-4'-NO ₂	2,74		0,29	2,516	1,692				
10	NH-Ph-3'-COOH			0,355		1,520				
11	NH-Ph-4'-CONH ₂	2,72		0,36						
12	NH-Ph-3'-Cl			0,373		1,614				
13	NH-Ph-4'-COOCH ₃	(0,15)	4,28	(0,436)	2,125	1,548	1,834	2,086	3,260	2,165
14	NH-Ph-3'-CF ₃	1,87 (0,2)		0,43	2,176	1,566	1,785	2,056	1,600	2,190
15	NH-Ph-4'-COOC ₂ H ₅	2,44		0,45	2,130	1,542	1,735	2,086	2,054	2,165
16	NH-Ph-4'-COCH ₃	1,61		0,502	2,045	1,535				
17	NH-Ph-4'-SO ₂ NH ₂	1,83		0,62	1,920	1,521				
18	NH-Ph-4'-NN-ph	1,95 (0,18)	4,43	0,64 (0,39)	2,168*	1,592	1,991	2,367	2,400	2,188
19	NH-Ph-4'-NO ₂	0,8		0,78	1,662*	1,500				
20	NH-Ph-4'-OH	(2,05)		-0,357			2,668	3,018	5,548	3,115
21	NH-Ph-3'-OH	(1,57)	5,62	0,121	1,570		2,203	2,867	3,720	2,837
22	NH-Ph-2',3'-диCl			0,373			1,859	2,016		2,062
23	NH-Ph-3',4'-диCl	(-0,21)		0,227 (0,6)			1,802	1,957	2,030	1,985
24	NH-Ph-4'-Cl	(0,27)		0,227			1,966	1,968		2,225

25	NH-Ph-4'-Br	(0,73)	4,85	0,232	0,730		1,921	2,246	2,370	2,472
26	NH-Ph-3'-OCH ₃	(1,18)	5,36	0,115			2,140	2,704	5,000	2,563
27	NH-Ph-4'-J	(0,74)	4,97	0,276	0,740		1,934	2,171	3,640	2,509
28	NH-Ph-4'-OPh	(1,16)		-0,028			2,350	2,384	4,610	2,670
29	NH-Ph-2',5'-диCl	(-0,97)		0,573			1,613	1,730	1,670	1,605
30	NH-Ph-2'-Ph	(0,43)					1,901	2,284	2,160	2,231
31	NH-N(CH ₃) ₂	0,56					2,051	2,097	2,610	2,370
32	NH-Ph-2',5'-диCH ₃	1,07					2,468	2,690	3,720	2,625
33	NH-Ph-2'-CH ₃	1,11					2,321	2,408	3,070	2,645
34	NH-Ph-2'-OCH ₃	1,54					2,405	2,852	4,32	2,860
35	NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	1,86					2,415	3,145	4,290	2,886
36	NH-Ph-3',4'-диCH ₃	2,72					2,745	3,445	5,800	3,450
37	NH-CH ₂ -Ph	3,66					3,371	3,351	7,980	3,920

*-значения вычислены из корреляционного уравнения $\tau = 0,44 pK_a (\text{ДМСО}) + 1,31$ ($n=13$, $r=0,915$)

()-значения pK_a для 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов.

Удерживание веществ в хроматографии в значительной степени зависит от подвижной фазы (природы и содержания органической фазы, воды, pH используемого буферного раствора) и природы разделяемых веществ. Известно, что главным фактором, влияющим на разделение соединений в ОФ ВЭЖХ и определяющим природу органических кислот, являются константы кислотной диссоциации кислых соединений в водно-органических растворах. Значения констант кислотной диссоциации и σ -констант заместителей в ароматическом ядре и время удерживания для изученных соединений приведены в табл. 2.

Для выявления природы факторов, влияющих на разделение веществ в ОФ ВЭЖХ, были изучены корреляционные зависимости времен удерживания производных от констант кислотной диссоциации в диметилсульфоксиде и диметилформамиде, а также и корреляционные зависимости времен удерживания от σ -констант заместителей в бензольном ядре изученных соединений. В качестве элюентов были использованы ацетонитрил, ацетонитрил-водные смеси и метанол.

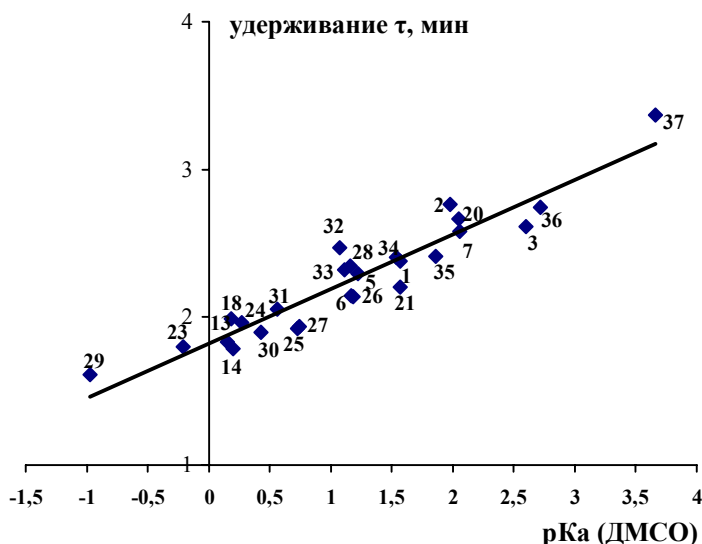


Рис. 1 Зависимость времен удерживания 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов в ацетонитриле от pK_a этих веществ в ДМСО. Элюент CH_3CN .

Для аминопроизводных динитробензофуразана зависимость времени удерживания веществ в ацетонитриле от констант кислотной диссоциации в ДМСО описывается уравнением: $\tau = 0,369 pK_a + 1,8221$ ($n=26$, $r = 0,947$). Зависимость

времени удерживания τ от σ – констант заместителей в ацетонитриле описывается уравнением $\tau = -1,21 \sigma + 2,28$ ($n=17$, $r=0,958$).

Корреляционная зависимость времен удерживания 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов от констант кислотной диссоциации в ДМФА описывается следующим уравнением: $\tau = 0,4052 pKa + 0,002$ ($n=8$, $r=0,945$). В ацетонитриле корреляционная зависимость времен удерживания нитробензодифуразановых производных ароматических аминов от pKa этих веществ в ДМСО описывается уравнением: $\tau = 0,44 pKa + 1,31$ ($n=13$, $r=0,915$). Времена удерживания нитробензодифуразановых производных ароматических аминов в ацетонитриле зависят от σ – констант как $\tau = 1,56 \sigma + 2,84$ ($n=13$, $r=0,986$).

Зависимость времени удерживания соединений в метаноле от их констант кислотной диссоциации pKa в ДМСО для аминопроизводных 5,7-динитробензофуразана описывается уравнением $\tau = 0,4857 pKa + 2,0962$ ($n=26$, $r=0,989$). Зависимость времен удерживания в метаноле от σ – констант (рис. 2) зависят как $\tau = -0,90 \sigma + 2,70$ ($n=16$, $r=0,965$). Корреляционная зависимость времен удерживания 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов в метаноле от констант кислотной диссоциации в ДМФА описывается следующим уравнением: $\tau = 0,52 pKa - 0,0876$ ($n=8$, $r=0,974$).

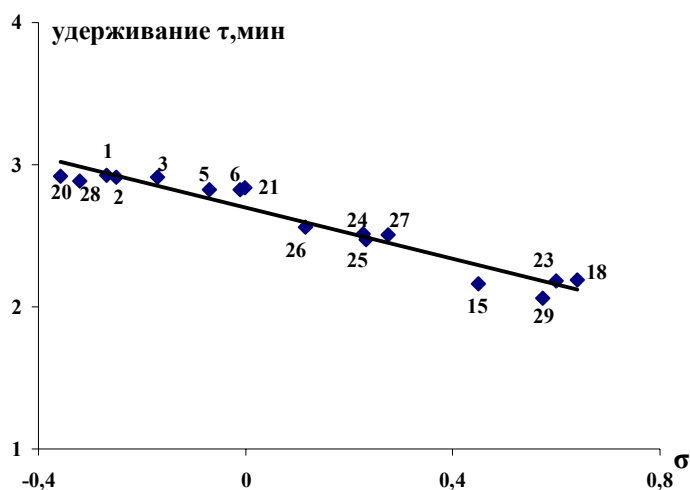


Рис. 2. Влияние σ -констант заместителя на времена удерживания 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов. Элюент CH_3OH .

Таким образом, удерживание 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов определяется кислотностью разделяемых веществ.

Обнаружено, что корреляционные зависимости времен удерживания веществ от констант кислотной диссоциации и σ -констант Гаммета зависят от содержания в них воды. Были использованы элюенты следующего состава: CH_3CN , CH_3CN-H_2O , (85:15, % об.), CH_3CN-H_2O , (70:30, % об.).

В чистом ацетонитриле, как было показано выше, характерны корреляционные зависимости с высокими значениями r .

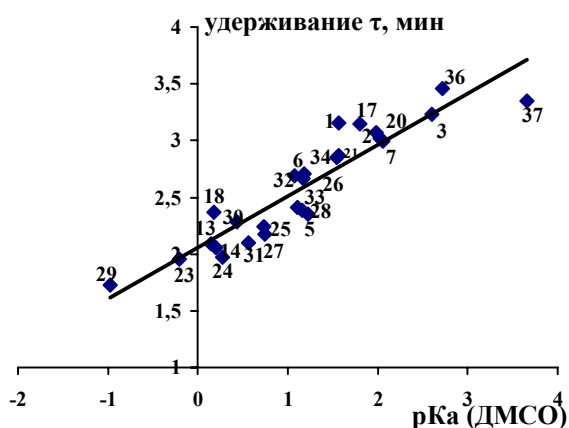


Рис. 3 Зависимость времен удерживания 5,7-динитробензофурановых производных ароматических аминов от pK_a этих веществ в ДМСО. Элюент— CH_3CN-H_2O , 85:15, % об.

Зависимость времен удерживания веществ в элюенте CH_3CN-H_2O , (85:15, % об.) от констант кислотной диссоциации pK_a в ДМСО для аминопроизводных 5,7-динитробензофурана описывается уравнением $\tau = 0,4525 pK_a + 2,0574$ ($n=26$, $r=0,929$). Аналогичная зависимость удерживания от σ – констант описывается уравнением $\tau = -1,9828 \sigma + 2,8701$ ($n=13$, $r=0,955$). В элюенте на основе ацетонитрила, содержание воды в котором составляет 15 % об., на времена удерживания нитробензодифурановых производных ароматических аминов от констант кислотной диссоциации pK_a в ДМСО описывается уравнением: $\tau = 0,3341 pK_a + 0,9982$ ($n=14$, $r=0,909$). Удерживание веществ в этом же элюенте в зависимости от σ – констант описывается уравнением: $\tau = -1,1472 \sigma + 2,1529$ ($n=14$, $r=0,942$). При содержании воды в элюенте 30% происходит дальнейшее ухудшение коэффициента корреляции.

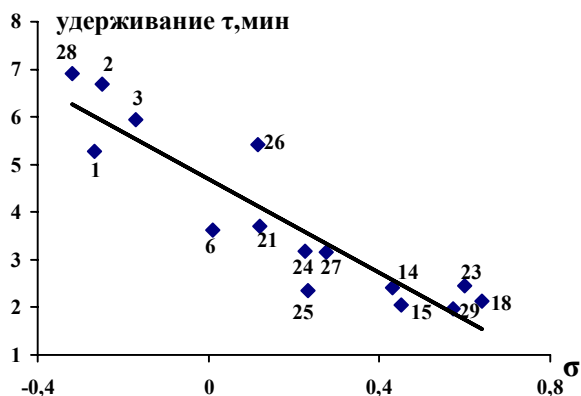


Рис. 4 Влияние σ -констант заместителя на времена удерживания 5,7-динитробензофурановых производных ароматических аминов. Элюент— CH_3CN-H_2O , 70:30, % об.

Зависимость времен удерживания веществ в элюенте CH_3CN-H_2O , 70:30, % об. от констант кислотной диссоциации pK_a в ДМСО для аминопроизводных динитробензофурана описывается уравнением: $\tau = 1,5615 pK_a + 2,1558$ ($n=26$, $r=0,915$). Удерживание соединений в этом же элюенте зависят от σ – констант по уравнению $\tau = -4,92 \sigma + 4,69$ ($n=15$, $r=0,911$).

Таким образом, как для 5,7-динитробензофурановых, так и для нитробензодифурановых производных ароматических аминов порядок элюирования соответствует ряду изменения кислотности соответствующих NH-кислот. При этом более сильные NH-кислоты проходят колонку за значительно более короткий промежуток времени. При анализе коэффициентов корреляции видно, что их значения выше для зависимостей времен удерживания веществ от их

констант кислотной диссоциации в ДМФА и ДМСО и констант Гаммета в метаноле по сравнению с ацетонитрилом. Это объясняется тем, что метанол является дифференцирующим, имеющим более полярные и основные свойства, растворителем. Поэтому кислотные свойства изучаемых соединений проявляются в этом элюенте сильнее, чем в ацетонитриле. Полученные данные также свидетельствуют о том, что коэффициенты корреляции ухудшаются при повышении содержания воды в элюенте до 30, % об.

ГЛАВА IV. ЭФФЕКТИВНОСТЬ И СЕЛЕКТИВНОСТЬ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОЙ КОЛОНКИ ПРИ РАЗДЕЛЕНИИ 5,7-ДИНИТРО- БЕНЗОФУРАЗАНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОВ

Изучено влияние ряда химических факторов (природы и полярности элюента, содержания водной фазы в водно-неводной смеси и ее pH) на эффективность хроматографической колонки и коэффициент селективности разделения производных при постоянной скорости потока элюента (0,8 мл/мин) и длине колонки (25 см).

Эффективность хроматографической колонки рассчитывали по формуле

$$N = 16 (t_R/w_b)^2 = 5.545 (t_R/w_{1/2})^2 \quad (1)$$

Данные по эффективности разделения колонки при определении 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов представлены в табл. 3. Из данных таблицы видно, что эффективность колонки, так же как и времена удерживания веществ, определяется силой и степенью проявления кислотных свойств исследуемыми производными, а также природой используемого элюента. Выше было показано, что состав используемого элюента влияет на эффективность колонки.

Таблица 3. Эффективность хроматографической колонки ZORBAX SB-C18 (N) и Hypersil ODS при разделении 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов

№		Число теоретических тарелок (N)			
		CH ₃ CN	CH ₃ CN-H ₂ O 85:15, % об.	CH ₃ CN-H ₂ O 70:30, % об.	CH ₃ OH
1	NH-Ph-м-ОН	815	704	2318	6967
2	NH-Ph-2',5'-диCl	1379	734	874	2396
3	NH-Ph-м, п-диCl	978	522	1194	2694
4	NH-Ph-п-Cl	999	1441	863	1443
5	NH-N(CH ₃) ₂	911	330	1262	4058
6	NH-Ph-п-CH ₃	1142	637	1961	1038
7	NH-Ph-п-N=N-Ph	1248	785	5612	2820
8	NH-Ph-п-Ph	979	639	1344	1391
9	NH-Ph-п-ОН	2702	1739	2135	924
10	NH-Ph-п-Br	1402	1041	1219	1461
11	NH-Ph-п-J	1020	1077	814	1217
12	NH-Ph-п-COOCH ₃	1122	1474	1624	3369
13	NH-Ph-п-OPh	1023	603	1309	6390
14	NH-Ph-п-Cl	949	1110	5250	2074
15	NH-Ph-п-OCH ₃	1951	1059	5448	744
16	NH-Ph-п-COOC ₄ H ₉	2197	5881	8497	16500

17	NH-Ph- <i>n</i> -OC ₂ H ₅	1404	1162	7455	4153
18	N(CH ₃)Ph	8848	10657	11979	2640
19	NH-CH ₂ - Ph	7647	16243	15529	23761
20	NH-Ph- <i>m</i> , <i>p</i> -CH ₃	1512	4905	7872	1718
21	NH-Ph- <i>o</i> -CH ₃	961	2750	3746	13972
22	NH-Ph- <i>o</i> -Ph	786	936	6247	2718
23	NH-Ph- <i>m</i> -OCH ₃	990	6599	3789	21573
24	NH-Ph- <i>o</i> -OCH ₃	1330	3306	4155	2739
25	NH-Ph-2',5'-диCH ₃	1591	4240	5375	14364
26	NH-Ph- <i>m</i> -CH ₃	768	1925	4688	10039
27	NH-Ph- <i>m</i> -CF ₃	2056	1310	2495	1326
28	Ph-N(CH ₃) ₂	18959	14002	13859	10807

Для определения зависимости эффективности колонки от природы элюента были использованы два элюента – ацетонитрил и метанол. Результаты представлены на рис. 5, 6. В ацетонитриле, как видно, все вещества имеют практически неизменную эффективность разделения (рис. 5). Если поверхность графика, отражающая число теоретических тарелок для каждого вещества в метаноле неоднородна, то в случае ацетонитрила совокупность числа теоретических тарелок практически для всех исследуемых производных можно графически представить как область с гладкой поверхностью. На рис. 6 видно, что вещества 18 и 19 (табл. 3) проявляют аномально высокое значение эффективности в ацетонитриле по сравнению с другими анализируемыми соединениями. Это можно объяснить строением этих веществ. В составе молекулы N-метиланилино-5,7-динитробензофуразана отсутствует подвижный атом водорода у атома N, а в молекуле 4-бензиламино-5,7-динитробензофуразана соответствующая NH-группа имеет низкую кислотность. Это подтверждается значением его константы кислотной диссоциации (pK_a в ДМСО 3,66). Поэтому хроматографическое поведение этих соединений заметно отличается от такового для остальных 5,7-динитробензофуразановых производных.

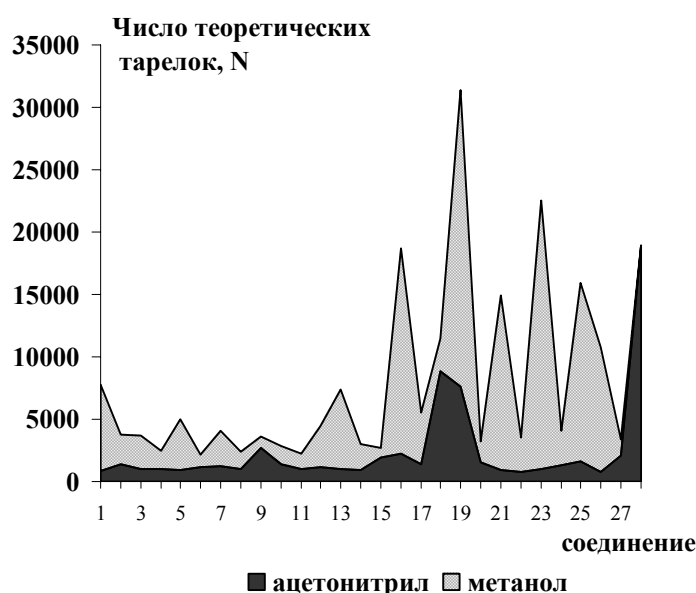


Рис. 5 Зависимость эффективности разделения хроматографической колонки ZORBAX SB-C18 (N) и Hypersil ODS от природы элюента. (Номера соответствуют соединениям в табл. 5)

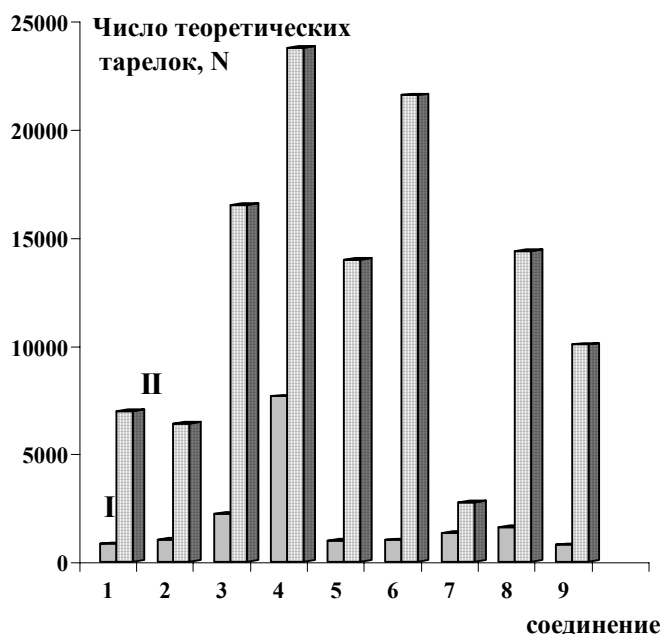


Рис. 6 Зависимость эффективности хроматографической колонки ZORBAX SB-C18 (N) и Hypersil ODS от природы элюента. Элюенты: I – ацетонитрил, II – метанол.

I – 4-(3'-гидроксифениламино)-5,7-динитробензофуразан; 2 – 4-(4'-фенокси-фениламино)-5,7-динитробензо-фуразан; 3 – 4-(4'-карбобутоксифениламино)-5,7-динитробензофуразан; 4 – 4-бензиламино-5,7-динитробензофуразан; 5 – 4-(2'-метилфениламино)-5,7-динитробензофуразан; 6 – 4-(3'-метоксифениламино)-5,7-динитробензофуразан; 7 – 4-(2'-метоксифениламино)-5,7-динитробензофуразан; 8 – 4-(2',5'-диметилфениламино)-5,7-динитробензофуразан; 9 – 4-(3'-метилфениламино)-5,7-динитробензофуразан.

Проведенные исследования указывают на то, что использование в качестве элюента растворителя с более полярными свойствами приводит к значительному увеличению числа теоретических тарелок и, следовательно, увеличению эффективности разделения. Это влияние также связано с проявлением кислотных свойств исследуемыми соединениями.

Особенно сильное влияние кислотных свойств на эффективность разделения проявляется в том случае, когда меняется pH буферного раствора, входящего в состав элюента (рис.7). Были использованы элюенты состава CH_3CN - фосфатный буферный раствор, в котором менялось значение pH.

Повышение содержания воды в ацетонитриле также приводит к повышению эффективности колонки при разделении веществ, имеющих различную кислотность (рис. 8). Степень такого влияния определяется кислотными свойствами разделяемых производных.

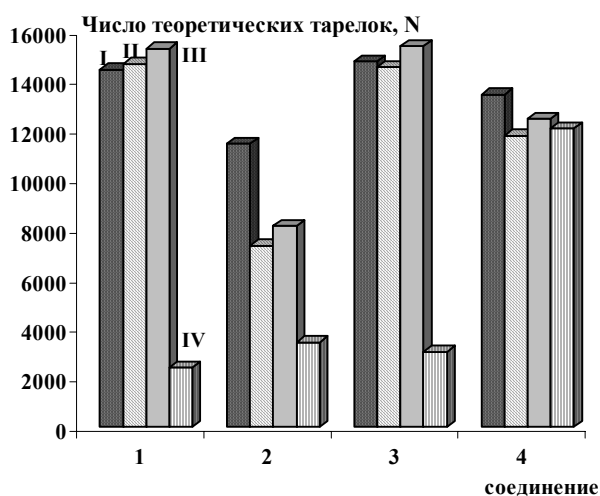


Рис. 7 Зависимость эффективности хроматографической колонки ZORBAX SB-C18 и Hypersil ODS (N) от pH подвижной фазы ацетонитрил - фосфатный буферный раствор (70:30, об.): I – pH 3,00; II – pH 3,70; III – pH 4,92, IV – pH 6,58.

I – 4-анилино-5,7-динитробензофуразан; 2 – 4-(4'-гидроксифениламино)-5,7-динитробензофуразан; 3 – 4-(4'-метилфениламино)-5,7-динитробензофуразан; 4 – 4-(N-метилфениламино)-5,7-динитробензофуразан.

При повышении содержания воды в элюенте для соединений № 5,7,9,10, 13 происходит возрастание эффективности хроматографического разделения. В других случаях это изменение состава элюента приводит к обратному влиянию на эффективность разделения. По-видимому, это связано со свойствами растворителя,

приводящего к сильным изменениям свойств растворенных веществ в этом растворителе. В отличие от чистых жидкостей в растворах нередко имеет место явление избыточной сольватации. В случае разбавленных растворов третьих частиц (молекулы, ионы) в бинарных растворителях состав сольватных оболочек вокруг растворенных частиц может отличаться от состава элюента. Из литературы также известно, что в ОФ сорбентах неводный растворитель концентрируется на сорбенте, приводя к изменению состава подвижной фазы. Возможно, эти эффекты и реализуются в случае элюирования 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов.

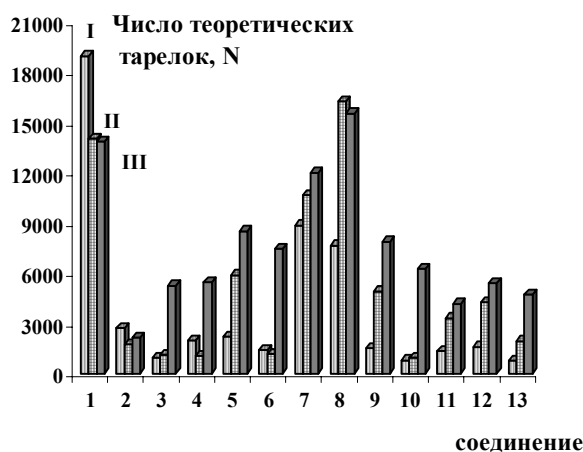


Рис. 8 Зависимость эффективности хроматографической колонки ZORBAX SB-C18 (N) и Hypersil ODS от содержания воды в элюенте ацетонитрил-вода. Содержание воды (% об.): I – 0; II – 15; III – 30.
1 – 4-(4'-диметиламинофенил)-5,7-динитробензофуразан; **2** – 4-(4'-гидроксифениламино)-5,7-динитробензофуразан; **3** – 4-(4'-хлорфениламино)-5,7-динитробензофуразан; **4** – 4-(4'-метоксифениламино)-5,7-динитробензофуразан; **5** – 4-(4'-карбобутоксифениламино)-5,7-динитробензофуразан; **6** – 4-(4'-этоксифениламино)-5,7-динитробензофуразан; **7** – 4-(N-метилфениламино)-5,7-динитробензофуразан; **8** – 4-бензиламино-5,7-динитробензофуразан; **9** – 4-(3', 4'-диметилфениламино)-5,7-динитробензофуразан; **10** – 4-(2'-фенилфениламино)-5,7-динитробензофуразан; **11** – 4-(2'-метоксифениламино)-5,7-динитробензофуразан; **12** – 4-(4'-бромфениламино)-5,7-динитробензофуразан; **13** – 4-(3'-метилфениламино)-5,7-динитробензофуразан.

Полученные в результате исследования экспериментальные данные, таким образом, показывают, что эффективность разделения 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов определяется кислотными свойствами исследуемых соединений, природой элюента и его pH, а также содержанием в нем воды. Кислотность разделяемых веществ, кроме того, определяет характер и интенсивность проявления тех или иных свойств элюента.

Селективность разделения также зависит от химического состава сорбента, состава и соотношения компонентов в элюенте, температуры колонки, химического состава компонентов. Исследовано влияние на коэффициент селективности природы элюента и содержания в нем воды для различных пар 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов (табл. 4). Коэффициент селективности рассчитывали по формуле $K_c = 2 \times (t_{R,2} - t_{R,1}) / (t_{R,2} + t_{R,1})$ (2)

Таблица 4. Влияние природы элюента и содержания в нем воды на коэффициент селективности разделения 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов

		CH ₃ OH	CH ₃ CN	CH ₃ CN-H ₂ O 85:15, % об.	CH ₃ CN-H ₂ O 70:30, % об.
N(CH ₃)Ph	NH-Ph-3'-OH	0,42	0,45	0,39	0,70
N(CH ₃)Ph	NH-Ph-2',5'-диCl	0,45	0,56	0,66	1,04
N(CH ₃)Ph	NH-Ph-3',4'-диCl	0,40	0,55	0,60	0,87
N(CH ₃)Ph	NH-Ph-4'-Cl	0,26	0,50	0,53	0,65
NH-N(CH ₃) ₂	N(CH ₃)Ph	0,39	0,45	0,53	0,91
NH-Ph-4-CH ₃	N(CH ₃)Ph	0,11	0,33	0,22	0,24
Ph-N(CH ₃) ₂	NH-Ph-3'-OH	0,47	0,49	0,46	0,91
Ph-N(CH ₃) ₂	NH-Ph-2',5'-диCl	0,50	0,59	0,74	1,21

Ph-N(CH ₃) ₂	NH-Ph-3',4'-диCl	0,45	0,58	0,69	1,06
Ph-N(CH ₃) ₂	NH-Ph-4'-Cl	0,31	0,54	0,62	0,86
Ph-N(CH ₃) ₂	NH-N(CH ₃) ₂	0,44	0,49	0,62	1,10
NH-Ph-2'-CH ₃	NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	0,28	0,37	0,61	0,98
NH-Ph-4'-Br	NH-Ph-4'-OH	0,16	0,33	0,20	0,47
NH-Ph-4'-Br	NH-Ph-4'-OC ₂ H ₅	0,26	0,36	0,48	0,94
NH-Ph-4'-Br	N(CH ₃)Ph	0,28	0,53	0,57	0,91
NH-Ph-4'-Br	NH-CH ₂ -Ph	0,30	0,55	0,61	0,98
NH-Ph-2'-OCH ₃	NH-Ph-3'-CF ₃	0,21	0,41	0,62	0,67
NH-Ph-2'-OCH ₃	NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	0,42	0,42	0,61	0,87
NH-Ph-4'-J	N(CH ₃)Ph	0,26	0,53	0,60	0,65
NH-Ph-4'-J	NH-CH ₂ -Ph	0,29	0,54	0,64	0,74
NH-Ph-4'-J	NH-Ph-4'-OC ₂ H ₅	0,24	0,35	0,52	0,69
NH-Ph-4'-J	NH-Ph-4'-OCH ₃	0,15	0,32	0,43	0,50
NH-Ph-4'-J	NH-Ph-4'-OH	0,15	0,32	0,33	0,24
NH-Ph-4'-NN-ph	NH-CH ₂ -Ph	0,42	0,51	0,48	0,98
NH-Ph-4'-OH	NH-Ph-4'-COOCH ₃	0,30	0,37	0,37	0,59
NH-Ph-4'-OH	NH-Ph-4'-Cl	0,18	0,31	0,30	0,46
NH-Ph-4'-OH	NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	0,33	0,33	0,45	0,58
NH-Ph-4'-OH	NH-CH ₂ -Ph	0,14	0,23	0,33	0,58
NH-Ph-2',5'-диCH ₃	NH-Ph-3'-OH	0,26	0,22	0,51	0,61
NH-Ph-2',5'-диCH ₃	NH-Ph-3'-CF ₃	0,21	0,47	0,72	0,87
NH-Ph-2',5'-диCH ₃	NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	0,43	0,48	0,71	0,16
NH-Ph-3'-OH	NH-Ph-3',4'-диCH ₃	0,26	0,21	0,51	0,62
NH-Ph-3'-OH	NH-Ph-4'-OC ₂ H ₅	0,18	0,26	0,46	0,51
NH-Ph-4'-COOCH ₃	NH-Ph-4'-OPh	0,21	0,25	0,49	1,08
NH-Ph-4'-COOCH ₃	NH-Ph-4'-OCH ₃	0,30	0,38	0,47	0,88
NH-Ph-4'-COOCH ₃	NH-Ph-4'-OC ₂ H ₅	0,32	0,40	0,55	1,04
NH-Ph-4'-COOCH ₃	N(CH ₃)Ph	0,40	0,57	0,63	1,01
NH-Ph-4'-COOCH ₃	NH-CH ₂ -Ph	0,43	0,59	0,67	1,08
NH-Ph-4'-OPh	NH-Ph-4'-Cl	0,17	0,18	0,43	0,83
NH-Ph-4'-OPh	NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	0,32	0,35	0,57	1,07
NH-Ph-3'-CF ₃	NH-Ph-2',5'-диCH ₃	0,21	0,47	0,72	0,87
NH-Ph-3'-CF ₃	NH-Ph-3',4'-диCH ₃	0,18	0,46	0,72	0,88
NH-Ph-3',4'-диCH ₃	NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	0,40	0,48	0,71	0,16
NH-Ph-4'-Cl	NH-Ph-4'-OCH ₃	0,18	0,31	0,41	0,59
NH-Ph-4'-Cl	NH-Ph-4'-OC ₂ H ₅	0,21	0,34	0,59	0,80
NH-Ph-4'-Cl	N(CH ₃)Ph	0,29	0,52	0,58	0,74
NH-Ph-4'-Cl	NH-CH ₂ -Ph	0,32	0,53	0,62	0,82
NH-Ph-4'-OCH ₃	NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	0,33	0,48	0,56	0,87
NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	NH-Ph-2',5'-диCH ₃	0,43	0,50	0,77	1,13
NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	NH-Ph-4'-OPh	0,32	0,35	0,57	1,07
NH-Ph-4'-COOC ₄ H ₉	N(CH ₃)-Ph	0,43	0,67	0,72	1,00

При анализе зависимости коэффициентов селективности от природы элюента следует, что при переходе от ацетонитрила к более полярному и основному элюенту (метанолу) K_c уменьшается (табл.4). Селективность разделения определяется отношением времен удерживания двух соседних пиков по уравнению (2). В свою очередь, главный фактор, определяющий удерживание веществ в ВЭЖХ - это кислотные свойства соединений. Поэтому уменьшение коэффициента селективности обусловлено проявлением кислотных свойств исследуемыми 5,7-динитробензофуразановыми производными ароматических аминов в более основном растворителе - метаноле. Обращает на себя внимание тот факт, что ΔK_c (ацетонитрил-метанол) двух производных неодинакова, а для некоторых пар соединений ΔK_c близка к 0 (рис. 9 и 10). Такое различие можно объяснить различной степенью проявления кислотных свойств соединениями (величиной констант кислотной диссоциации). На рис. 9 представлены производные, у которых значения K_c примерно одинаковы для ацетонитрила и метанола. Средняя ΔpK_a

производных, представленных на рис. 9 составляет 0,84 единицы, в то время как для соединений на рис. 10 эта величина равна 1,30 единиц pK_a .

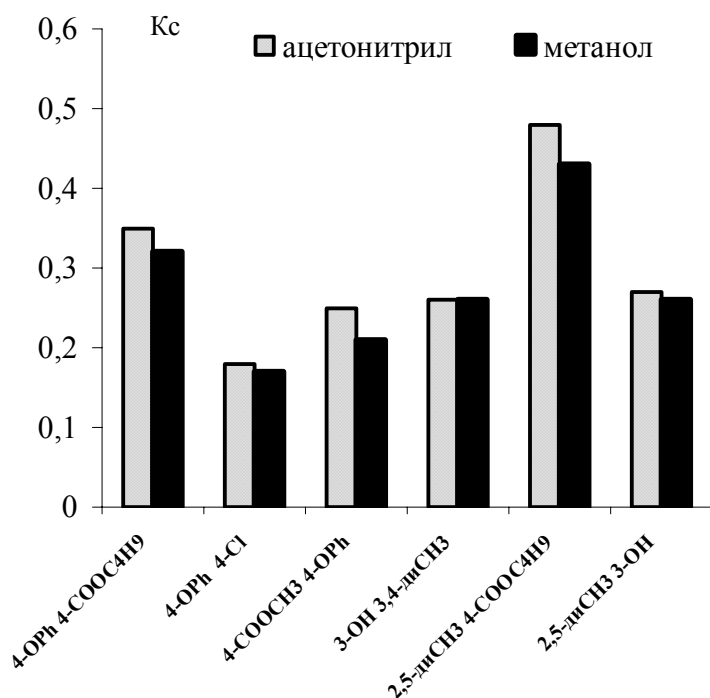


Рис. 9 Селективность разделения для соединений с близкими pK_a

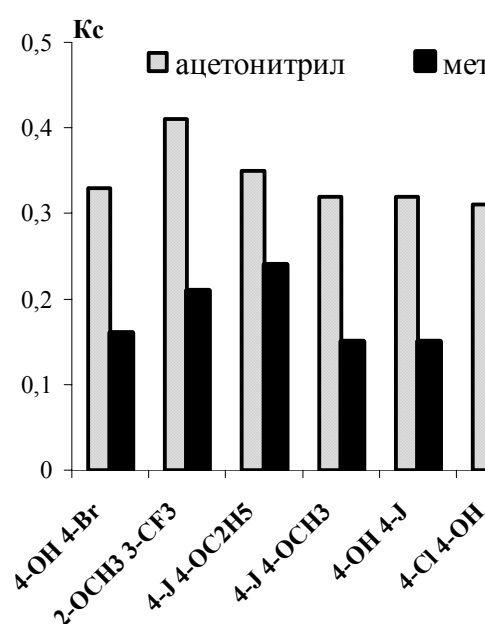


Рис. 10 Селективность разделения для соединений с значительной разницей в pK_a

Данные, полученные для зависимости коэффициента селективности от pH буферного раствора, входящего в состав подвижной фазы при разделении 5,7-динитробензофурановых производных, представлены на рисунке 11.

Полученные данные свидетельствуют о том, что использование в качестве элюента буферного раствора с pH в "кислой" области не оказывает влияние на хроматографическое поведение исследуемых веществ. В области pH 3-5 происходит подавление кислотной диссоциации исследуемых соединений. При переходе к нейтральной среде (pH 6,58) вещества начинают проявлять кислотные свойства. Это естественным образом сказывается на значениях их коэффициента селективности.

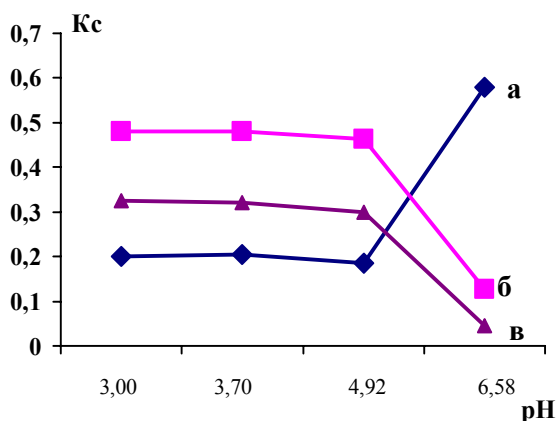


Рис. 11 Зависимость коэффициента селективности колонки от pH буферного раствора при разделении следующих пар производных:
а N-метиланилино-5, 7-динитробензофуран и 4-(4'-метилфениламино)-5,7-динитробензофуран;
б 4-(4'-метилфениламино)-5,7-динитробензофуран и 4-(4'-гидроксифениламино)-5,7-динитробензофуран;
в 4-(4'-гидроксифениламино)-5,7-динитробензофуран и 4-анилино-5,7-динитробензофуран

Нужно отметить, что для пары веществ **а** (рис. 11) при переходе к нейтральному значению рН раствора значение коэффициента селективности резко увеличивается, в отличие от пары **б** и **в** (рис. 11), для которых наблюдается обратная зависимость. Это обусловлено тем, что в паре веществ **а** есть соединение- N-метиланилино -5,7 -динитробензофуразан, которое, в силу своего строения не проявляет кислотных свойств. Поэтому во всем диапазоне значений рН раствора, параметры удерживания для этого соединения остаются неизменными, в отличие от 4-(4'-метилфениламино)-5,7-динитробензофуразана, время удерживания которого изменяется при значении рН 6,58. Следовательно, пики этих двух соединений удаляются друг от друга, в результате коэффициент селективности колонки увеличивается. Увеличение рН раствора для пары веществ **б** и **в** также приводит к изменению их времен удерживания, но при этом хроматографические пики этих производных сближаются, следовательно, ухудшается коэффициент селективности. Такое проявление кислотности обусловлено близкими значениями pK_a этих соединений, которое для 4-(4'-метилфениламино)-5,7-динитробензофуразана, 4-(4'-гидроксифениламино)-5,7-динитробензофуразана и для 4-анилино-5,7-динитробензофуразана составляет 2,60; 2,05 и 2,06, соответственно.

Таким образом, полученные экспериментальные данные по селективности и эффективности хроматографического разделения 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов могут быть использованы для подбора оптимальных условий хроматографического анализа этих веществ. Выявленные выше закономерности разделения ароматических аминов были использованы для разработки методик их определения в различных объектах. Типичные хроматограммы изученных 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных приведены на рисунках 12 и 13.

Как видно из представленных данных, нитробензодифуразановые производные разделяются менее чем за 4 минуты, в то время как время разделения смеси 5,7-динитробензофуразановых производных составляет от 4-8 минут. Это обусловлено большей гидрофобностью фуразанового фрагмента по сравнению с NO_2 -группой.

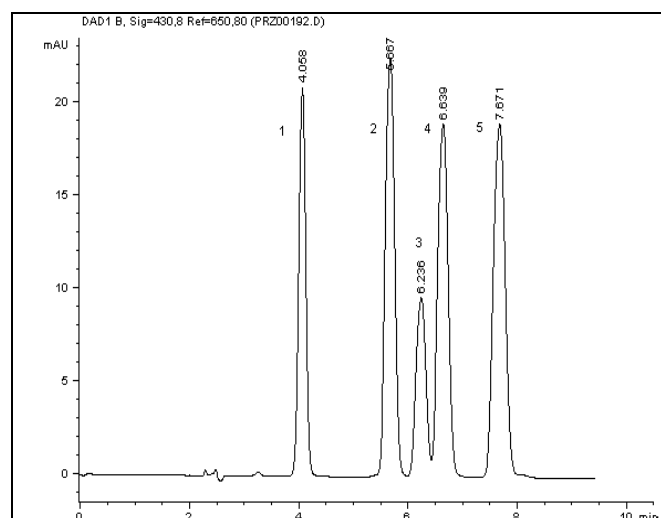
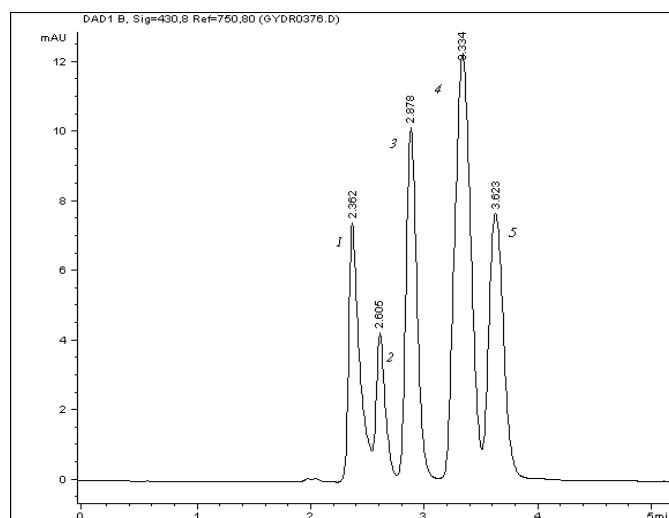


Рис.12. Хроматограмма смеси производных бензофуразановых ароматических аминов. Элюент ацетонитрил – 0,01 М фосфатный буфер (рН 4,0) (80:20).
 1- 4-ацетиланилинонитробензодифуразан,
 2- 4-метокси-анилинонитробензодифуразан,
 3 – 4-метиланилинонитробензодифуразан,
 4 – 4-гидроксид-анилинонитробензодифуразан, 5 – 4-анилинонитробензодифуразан.
 Элюент ацетонитрил – фосфатный буферный раствор (80:20, рН 4,0). Скорость подвижной фазы 1,0 мл/мин.

Рис.13. Хроматограмма 5,7-динитро-бензофуразановых производных ароматических аминов. Элюент ацетонитрил-0,01 М фосфатный буфер (рН 3,0) (70:30).
 1- 4-гидроксианилино-5,7-динитробензофуразан; 2- 4-метоксианилино-5,7-динитробензофуразан; 3-N-метиланилино-5,7-динитробензофуразан; 4 - 4-метиланилино-5,7-динитробензофуразан; 5-3,4-диметиланилино-5,7-динитробензофуразан.
 Элюент ацетонитрил-0,01 М фосфатный буфер (70:30, об., рН 3). Скорость подвижной фазы 0,8 мл/мин.

Выявленные закономерности были использованы для разработки методик определения некоторых ароматических аминов в модельных и промышленных смесях. Пример определения некоторых ароматических аминов в модельных смесях приведен в таблице 8. Для хроматографического определения аминов в модельных водах и сточных водах использованы стандартные растворы анилина, 4-хлоранилина и других ароматических аминов с известными концентрациями. Как видно из таблицы, возможны чувствительные ВЭЖХ определения анилина и его *N*-замещенных в растворах.

Таблица 5. Результаты определения анилина и его *N*-замещенных в модельных растворах ($n = 5$, $P = 0.95$)

Определяемое вещество	Введено вещества, мкг/л	Найдено вещества, мкг/л	S_r
Анилин	154	149 ± 6	0,03
<i>N</i> -Метиланилин	225	231 ± 9	0,03
<i>N,N</i> -Диметиланилин	264	258 ± 10	0,04
<i>N</i> -Этиланилин	282	290 ± 12	0,04

Ароматические амины используются для производства антиоксидантов, стабилизаторов, красителей, лекарственных веществ. В связи с вышесказанным представлялось интересным изучить возможность обнаружения анилина и других ароматических аминов в реакционных смесях и сточной воде предприятия по производству антиоксидантов (ЧПО «Химпром»). В таблицах 6 и 7 представлены результаты определения ряда ароматических аминов в сточных водах и промышленных реакционных смесях. Ацетонанил (2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолин) является продуктом взаимодействия анилина с ацетоном и используется в качестве эффективного антиоксиданта. В нем установлено присутствие около пятидесяти соединений, имеющих первичные, вторичные и третичные аминогруппы. Антиоксидантная способность зависит в основном от присутствия в нем соединений с вторичными и третичными аминогруппами. При определении компонентов Ацетонанила его растворяли в ацетонитриле и проводили химическую модификацию 4-хлор-5,7-динитробензофуразаном. После этого раствор подвергали хроматографическому анализу. Расчет содержания димера проводили по отношению к исходной навеске вещества.

3,3'-Дихлор-4,4'-диаминодифенилметан является модификатором полиэтилена при создании композиционных труб. Его анализировали после химической модификации сточной воды 4-хлор-5,7-динитробензофуразаном.

Таблица 6 Результаты определения анилина и 2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолина в промышленной реакционной смеси Ацетонанил

Определяемое вещество	Введено вещества, мкг	Найдено вещества, мкг $X \pm \Delta X$	S_r
Анилин в присутствии 2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолина	0,52	$0,51 \pm 0,02$	0,03
2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолин в присутствии анилина	0,43	$0,44 \pm 0,02$	0,03
Димер в Ацетонаниле	---	$47,1 \pm 2,3 \%$	0,04

Таблица 7. Результаты определения анилина и 3,3'-дихлор-4,4'-диаминодифенилметана в сточной воде производства

Определяемое вещество	Введено вещества, мкг/л	Найдено вещества, мкг/л $X \pm \Delta X$	S_r
Анилин	125	121 ± 4	0,03
Анилин	--	87 ± 4	0,04
3,3'-Дихлор-4,4'-диаминодифенилметан	143	138 ± 5	0,03
3,3'-Дихлор-4,4'-диаминодифенилметан	--	97 ± 4	0,04

Представленные данные, таким образом, демонстрируют возможность селективного и чувствительного определения ароматических аминов с различной степенью замещения аминогруппы в реакционных смесях и сточных водах производств.

ВЫВОДЫ:

1. Впервые проведено изучение влияния химической модификации ароматических аминов 4-хлор-5,7-динитробензофуразаном и метоксинитробензодифуразаном на параметры хроматографического элюирования в условиях обращенно-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии (ОФ ВЭЖХ) на колонках ZORBAX SB-C18 и Hypersil ODS.

2. Потенциометрическим методом оценена кислотность 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов в ДМСО и ДМФА. Показано, что наблюдается удовлетворительная корреляция между кислотностью производных ароматических аминов, а также констант заместителей в ароматическом кольце Гаммета и удерживанием производных в хроматографической колонке.

3. Для разделения производных ароматических аминов следует использовать смеси вода-ацетонитрил, вода-метанол. Выявлено влияние состава элюента, содержания в нем воды и его pH на эффективность и селективность хроматографического разделения производных ароматических аминов. Для более кислых производных характерно большее влияние на эффективность и селективность разделения природы элюента и содержания в нем воды по сравнению с менее кислыми соединениями.

4. Разработана методология оптимизации хроматографического разделения ароматических аминов. Предложены методики определения ряда ароматических аминов в модельных растворах и сточных водах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием. Предел обнаружения ароматических аминов в растворах достигает 2×10^{-6} М/л.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ ИЗЛОЖЕНО В ПУБЛИКАЦИЯХ:

1. Изучение параметров разделения 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов в ОФ ВЭЖХ / М.И. Евгеньев, И.И. Евгеньева, Ф.С. Левинсон, Е.А. Ермолаева, Я.Р. Валитова // Вестник КГТУ. – 2005. - №1. - С. 81-88.

2. Высокоэффективная жидкостная хроматография 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов / М.И. Евгеньев, И.И. Евгеньева, Ф.С. Левинсон, Е.А. Ермолаева, Я.Р. Валитова // Тез. докл. VIII Молодежной научной школы-конференции по органической химии. - Казань, 2005. - С. 299.

3. Высокоэффективная жидкостная хроматография 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов / М.И. Евгеньев, И.И. Евгеньева, Ф.С. Левинсон, Е.А. Ермолаева, Я.Р. Валитова, Э.Л. Гоголашвили // Тез. докл. 2 Всероссийской конференции "Аналитические приборы" 27 июня-1 июля 2005. - С.-Петербург, 2005. - С. 313.

4. Высокоэффективная жидкостная хроматография 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов / М.И. Евгеньев, И.И. Евгеньева, Ф.С. Левинсон, Е.А. Ермолаева, Я.Р. Валитова // Журнал аналит. химии. – 2006. – Т. 61. - № 2. - С. 143-148.

5. Евгеньев М.И. Эффективность разделения 5,7-динитробензофуразановых производных ароматических аминов / М.И. Евгеньев, И.И. Евгеньева, Я.Р. Валитова // Сорбционные и хроматографические процессы. - 2006. - Т.6. - Вып. 3. - С. 359-365.

6. Высокоэффективная жидкостная хроматография 5,7-динитробензофуразановых и нитробензодифуразановых производных ароматических аминов / М.И. Евгеньев, И.И. Евгеньева, Ф.С. Левинсон, Я.Р. Валитова, Е.А. Ермолаева // Аннотация сообщений научной сессии КГТУ 1-4 февраля 2006. - Казань, 2006. - С. 15.

7. RP-HPLC separation of 5, 7-dinitrobenzofurazan and nitrobenzodifurazan derivatives of aromatic amines / M.I. Evgen'ev, I.I. Evgen'eva, F.S. Levinson, E.A. Ermolaeva, J.R. Valitova // ICAS-2006, June 25-30, 2006. - Moscow, 2006. - P. 205.

Офсетная лаборатория Казанского государственного
технологического университета

Заказ

Тираж 80 экз.